

(本试剂仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

## 线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)

货号：E-CK-A301

规格：20 T / 50 T / 100 T

产品编号	产品名称	20 T	50 T	100 T	Storage
E-CK-A301A	JC-1 溶液	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	-20°C
E-CK-A301B	JC- 1 Assay Buffer (10 $\times$ )	4 mL	10 mL	10 mL $\times$ 2	2~8°C
E-CK-A301C	CCCP(10 mM)	40 $\mu$ L	40 $\mu$ L	40 $\mu$ L	-20°C
说明书				一份	

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

全国免费电话 400-9627-365  
销售部电话 027-65022280, 027-87854967  
技术部电话 027-65521719  
电子邮箱（销售） [Perry@elabscience.cn](mailto:Perry@elabscience.cn)  
电子邮箱（技术） [Flow@elabscience.cn](mailto:Flow@elabscience.cn)  
QQ 客服 800110755  
网址 [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

联系时请提供产品货号(见标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 产品简介

Elabscience®的线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)以 JC-1 为荧光探针, 通过快速灵敏检测线粒体膜电位变化从而检测细胞早期凋亡的试剂盒。

本试剂盒提供了羰基氰化物间氯苯腙 (CCCP) [E-CK-A301C]作为诱导线粒体膜电位下降的阳性对照试剂。

## 检测原理

线粒体膜电位下降是细胞凋亡早期的标志性事件, 发生在细胞核凋亡特征(染色质浓缩、DNA 断裂)出现之前, 一旦线粒体膜电位崩溃, 细胞凋亡便不可逆转。

JC-1 是一种广泛用于检测线粒体膜电位 $\Delta\psi_m$ 的理想荧光探针, 可以检测细胞、组织或纯化的线粒体膜电位。JC-1 有单体和多聚体两种存在状态, 两者发射光谱不同。在正常细胞内, 线粒体膜电位较高, JC-1 聚集在线粒体的基质中, 形成聚合物, 可产生红色荧光; 凋亡早期, 线粒体膜电位降低, JC-1 不能聚集在线粒体基质中, 此时 JC-1 为单体, 可产生绿色荧光。

通过 JC-1 从红色荧光到绿色荧光的转变可检测到细胞膜电位的下降, 可将 JC-1 荧光颜色的转变作为细胞凋亡早期的检测指标。常用红绿荧光的相对比例来衡量线粒体去极化的比例。

JC-1 单体的最大激发波长为 514 nm, 最大发射波长为 529 nm; JC-1 聚合物的最大激发波长为 585 nm, 最大发射波长为 590 nm。实际观察时, 常规设置红色荧光和绿色荧光即可。

## 自备试剂

PBS、去离子水

## 产品使用说明

### 1xJC-1 Assay Buffer 配制

JC-1 Assay Buffer (10 x)[E-CK-A301B]为 10 x浓缩液, 实验前用去离子水稀释成 1 x工作液, 2~8°C 保存。

例如: 取 100  $\mu$ L JC-1 Assay Buffer (10 x), 加入 900  $\mu$ L 去离子水, 即为 1x JC-1 Assay Buffer。

### JC-1 染色工作液配制

1. 取 100  $\mu$ L JC-1 Assay Buffer (10 x) [E-CK-A301B], 加入 900  $\mu$ L 去离子水, 混匀并预热至 37°C。
2. 加入 2  $\mu$ L 的 JC-1 溶液[E-CK-A301A], 混匀至充分溶解。配成的溶液即为 JC-1 染色工作液。

注: 因 JC-1 在水中的溶解度较小, 为促进溶解可 37°C 加热。

### 阳性对照设置

1. CCCP(10 mM)[E-CK-301C]推荐按照 1:1000 比例加入细胞培养液中, 稀释成 10  $\mu$ M, 处理细胞 20 min。
2. 按照实验操作指南进行 JC-1 线粒体膜电位检测。

注: 对大多数细胞而言, 通常 10  $\mu$ M 的 CCCP 处理 20 min, 线粒体膜电位会完全丧失, JC-1 染色后呈绿色荧光, 而正常的细胞经 JC-1 染色后呈红色荧光。对于特定的细胞, CCCP 的作用浓度和时间可能有所不同, 请参考相关文献确定。

## 实验操作指南

1. 根据实验需求配制 1× JC-1 Assay Buffer 和 JC-1 染色工作液，详见[产品使用说明](#)。稀释好的 1× JC-1 Assay Buffer 保存在 2~8°C。
2. 阳性对照设置，详见[产品使用说明](#)；细胞按照实验方案进行凋亡诱导。
3. 诱导完成后的细胞，300 g 离心 5 min，弃上清，收集细胞，PBS 轻轻重悬细胞并计数。

**注：**良好的细胞状态是实验的关键。贴壁生长的细胞用于凋亡检测时，可能会因为胰酶消化、吹打等处理导致细胞的坏死或凋亡，对实验结果可能存在不可控的影响，请谨慎处理。

4. 取  $1\sim 5 \times 10^5$  重悬的细胞，300 g 离心 5 min，弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次，离心后弃上清。
5. 细胞悬液中加入 500  $\mu$ L JC-1 染色工作液重悬细胞。37°C，5%CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 15~20 min。  
**注：**培养温度与细胞类型有关，一般哺乳动物细胞建议 37°C，其他种属根据细胞培养条件选择合适的温度。
6. 300 g 离心 5 min，弃上清，加入 500  $\mu$ L 预冷的 1× JC-1 Assay Buffer 洗涤 2 次。
7. 加入 500  $\mu$ L 预冷的 1× JC-1 Assay Buffer 重悬细胞。
8. 样本置于冰上保存，30 min 内用流式细胞仪检测。

## 保存条件

JC-1 Assay Buffer (10 ×) [E-CK-A301B]请 2~8°C 保存，其余试剂保存于-20°C。

JC-1 溶液[E-CK-A301A]需避光保存，避免反复冻融。

## 注意事项

1. 保质期 1 年。为获得最佳的使用效果，请在 3~6 个月内使用。
2. JC-1 在较低温度情况下会有凝固或沉淀，可在 20~25°C 水浴至全部溶解后使用。
3. 对 pH 变化敏感的细胞建议用胎牛血清代替 Assay Buffer 孵育染色及洗涤，或延长观测时间。
4. 荧光物质均易发生淬灭，在进行荧光观察时，尽量缩短观察时间，同时在操作和存放过程中也尽量注意避光。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。